Aus der Abteilung Dermatologie I
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. G. Rassner
der Hautklinik der Universität Tübingen

DER ELEKTROPHORESE-MOBILITÄTS-TEST (EMT) BEI MALIGNEN MELANOMEN.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Rainer Matthias Haag
aus Bad Mergentheim

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549627_0061

Aus der Abteilung Dermatologie I
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. G. Rassner
der Hautklinik der Universität Tübingen

DER ELEKTROPHORESE-MOBILITÄTS-TEST (EMT) BEI MALIGNEN MELANOMEN.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Rainer Matthias Haag
aus Bad Mergentheim

1980

Dekan: Professor Dr. H. Heimann
Berichterstatter: Professor Dr. G. Schieferstein
(Professor Dr. G. Rassner)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

Herrn Professor Dr. G. Schieferstein möchte ich für die Überlassung des Themas und seine immer bereite Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit herzlich danken.

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde im Hämatologie-Labor der Universitäts-Kinderklinik Tübingen durchgeführt. Herrn Dr. Ch. Tautz (Kinderklinik Tübingen) danke ich für seine freundliche Hilfe.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	4
	2.1. Patienten	4
	2.2. Lymphozytenisolierung	4
	2.3. Antigen	6
	2.4. Testpartikel	6
	2.5. Ansätze	7
	2.6. Messungen und Berechnungen	8
	2.7. Spontanrosetten	10
3.	Ergebnisse	12
	3.1. Ergebnisse des EMT	12
	3.2. Ergebnisse des Rosettentests	16
	3.3. Tabellen und Abbildungen	19
4.	Diskussion	28
	4.1. Zur Immunologie des malignen Melanoms	28
	4.2. Die Entwicklung und einige Ergebnisse des EMT	29
	4.3. Eigene Ergebnisse	31
	4.4. Technische Probleme des EMT	37
	4.5. Rosettentest	38
5.	Zusammenfassung	43
6.	Literaturverzeichnis	45

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

EF	: encephalitogener Faktor
EMT	: Elektrophorese-Mobilitäts-Test
ETS	: tannierte u. stabilisierte Hammelerythrozyten
FKS	: fëtales Kälberserum
HBSS	: Hanks balanced salt solution
lmm	: lentigo maligna melanoma
MEM-Test	: Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-Test
m M	: malignes Melanom
MSF	: makrophage slowing factor
nm	: noduläres Melanom
ssm	: superficial spreading melanoma

1. Einleitung

Das maligne Melanom (m M) des Menschen ist ein an sich seltener Tumor (ca. 3 Prozent aller Tumoren) (46, 78). Neben Basaliom und spinozellulärem Carcinom zählt es jedoch zu den häufigsten bösartigen Geschwülsten der Haut (85). In den letzten Jahren wird eine zunehmende Häufigkeit des m M bei Weißen beobachtet (57, 82). Die sehr früh mögliche Metastasierung, der zum Teil foudroyante Verlauf und das Vorkommen auch bei jungen Menschen (ein Patient in unserem Krankengut war 23 Jahre alt), machen das m M zu einem der am meisten gefürchteten Tumoren (6, 48).

Die Diagnose m M kann klinisch oft nur schwer gestellt werden, da der Tumor einerseits in vielen Formen auftritt, andererseits zahlreiche Hautveränderungen unter dem Bild eines m M erscheinen (z.B. Naevuszellnaevus, Dermatofibrom, pigmentiertes Basaliom, seborrhoische Alterswarze, Granuloma pyogenicum) (Übersicht: 6, 44).

Für die immunologische Tumorforschung ist das m M im Zusammenhang mit der möglichst frühen Erkennung und Behandlung sowie als Modell einer malignen Erkrankung von besonderem Interesse. Nach van Broen (1977) u.a. weist jedoch die Mehrzahl der heute klinisch einsetzbaren immunologischen Diagnoseverfahren einen Mangel an Spezifität und Sensitivität auf.

Eine Ausnahme stellt der Elektrophorese-Mobilitäts-Test (EMT) dar, der von vielen Autoren als hochempfindliche in-vitro-Methode zum Nachweis spezifisch sensibilisierter Lymphozyten angesehen wird (19-22, 52, 61, 67, 83-84). Diese Lymphozyten setzen beim Kontakt mit dem als Antigen wirkenden EF (encephalitogener Faktor, ein aus normalem menschlichen Gehirn gewonnenes basisches Myelinprotein) Lymphokine (Mediatoren) frei. Lymphokine verändern das Oberflächenpontential von Indikatorzellen (tannierte und stabilisierte Hammelerythrozyten, ETS) und damit deren Wandergeschwindigkeit im elektrischen Feld. Sie können damit in einer trägerfreien Zellelektrophorese indirekt nachgewiesen werden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob mit Hilfe des EMT bei Patienten mit malignen Melanomen (Primärtumor ohne klinisch nachweisbare Metastasen) eine spezifische Sensibilisierung der Lymphozyten gegen EF nachgewiesen werden kann. Wenn der EMT damit eine Unterscheidung zwischen Melanompatienten und Patienten mit anderen Hauterkrankungen vor der histologischen Diagnosestellung erlauben würde, könnte letzteren eventuell ein größerer operativer Eingriff erspart werden.

Als weiterer immunologischer Parameter wurde bei den Patienten der Anteil der mit Schaferythrozyten spontan

rosettenbildenen Lymphozyten im peripheren Blut bestimmt. Diese spontane Rosettenbildung ist nach heutigem Verständnis wahrscheinlich eine spezifische Eigenschaft der thymusabhängigen (T-)Lymphozyten.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Wir untersuchten die Lymphozyten von insgesamt 78 Personen. Davon waren 32 Patienten, die unter der Verdachtsdiagnose malignes Melanom in die Klinik kamen. Bei 21 Patienten dieser Gruppe wurde die Diagnose histologisch bestätigt, bei 11 Patienten konnte sie entkräftet werden. 2 Patienten mit histologisch gesicherten m M wurden 19 Tage nach Entfernung des Primärtumors untersucht. Eine Kontrollgruppe bestand aus 16 Patienten mit Psoriasis vulgaris ohne Gelenkbeteiligung. Keiner der Patienten wurde zum Zeitpunkt der Untersuchung medikamentös behandelt (insbesondere keine Steroid- oder PUVA-therapie). Als weitere Kontrollgruppe wurden 28 klinisch gesunde Personen untersucht.

2.2. Lymphozytenisolierung

2.2.1. Methode

15 - 20 ml peripheres Venenblut wurden mit 1 ml Vetren^{R} (Promonta, Hamburg; entsprechend 100 I.E. Heparin) und 2 ml Macrodex^{R} 6 % (Knoll AG, Ludwigshafen; Dextran 60) versetzt und 1 h bei 37^{o} C inkubiert. Dextran 60 soll dabei eine schnellere Sedimentation der Erythrozyten bewirken. Das so gewonnene leukozytenreiche Plasma wurde

vorsichtig abpipettiert und auf 15 ml sterile Ficoll-Lösung (s.2.2.4.) in Zentrifugengläsern überschichtet. Nach 30-min. Zentrifugieren bei 250 g stellten sich die angereicherten Lymphozyten als milchiges Band in der Interphase dar, während die spezifisch schwereren Erythrozyten und Granulozyten durch die Ficoll-Lösung sedimentiert waren (Gradientenzentrifugation). Die Lymphozyten wurden in sterile Plastikröhrchen abpipettiert und 2-mal in Hankslösung (Hanks balanced salt solution, HBSS) gewaschen, um anhaftende Serumbestandteile zu entfernen. Nach Bestimmung der Zellzahl pro ml mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer wurden die Zellen in RPMI 1640 Medium (Microbiological Associates, Bethesda, Maryland, USA) aufgenommen und auf eine Konzentration von 5×10^6 Lymphozyten pro ml eingestellt.

2.2.2. Granulozytenkontamination

Um die Reinheit der Lymphozytensuspension zu bestimmen, wurden die noch vorhandenen polymorphkernigen Zellen bei 33 Proben ebenfalls in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt. Der Anteil der Granulozyten betrug dabei im Durchschnitt 13 %.

2.2.3. Vitalitätsnachweis

Bei allen Proben wurde nach der 24-h Inkubation (s.u.) ein Trypanblau-Test durchgeführt : die abzentrifugierten

Lymphozyten wurden in ca. 1 ml Überstand resuspendiert und im Verhältnis 2 : 1 mit Trypanblau-Lösung (1 %ig in physiolog. NaCl-Lösung) versetzt. Avitale Zellen färben sich dabei blau an. Die Überlebensrate der Lymphozyten bei 100 ausgezählten Zellen betrug im Durchschnitt 96 % (n = 109). Proben mit mehr als 10 % avitalen Lymphozyten wurden verworfen.

2.2.4. Ficoll-Ansatz

9,24 g Ficoll(Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden), 119,4 ml Aqua dest. und 1 Ampulle Urovison^{R} (25 ml/ 58 % ; Schering AG, Berlin) wurden ca. 1 h mit dem Magnetrührer gerührt und durch Filtration sterilisiert. Das spezifische Gewicht wurde durch Wiegen einer 10 ml-Probe bestimmt und betrug zwischen 1,072 und 1,073 g/cm^3.

2.3. Antigen

Als Antigen verwendeten wir den encephalitogenen Faktor (EF), ein basisches Protein, das gemäß Caspary u. Field (1971) aus menschlichem Gehirn gewonnen wurde. EF wurde uns freundlicherweise von Prof. W. Ax, Behringwerke, Marburg, zur Verfügung gestellt. Wir verwendeten eine Lösung von 0,3 mg EF /ml physiolog. NaCl-Lösung.

2.4. Testpartikel

Die bei dem ursprünglich von Caspary u. Field (1971)

beschriebene MEM-Test zum indirekten Nachweis von MSF (macrophage slowing factor) verwendeten peritonealen Makrophagen von Meerschweinchen werden beim EMT nach Porzsolt (1975 a) durch tannierte und sulphosalicylierte Hammelerythrozyten (ETS) ersetzt. Tannin ermöglicht durch eine Veränderung der Membran die Adsorption von Proteinen, Sulphosalicylsäure stabilisiert die Hammelerythrozyten und macht sie für mehrere Monate haltbar (67, 77). Wir setzten für den Test eine Suspension von 5×10^7 ETS/ml in HBSS an.

2.5. Ansätze

2.5.1. Testansätze

1 ml Lymphozytensuspension (5×10^6 Zellen) wurde mit 3 ml steriler Antigenlösung (0,9 mg EF) versetzt.

2.5.2. Leeransatz

Bei 24 Proben wurde ein "Leeransatz" ohne Antigen mitgeführt : 1 ml Lymphozytensuspension (5×10^6 Zellen) wurde mit 3 ml steriler, physiolog. NaCl-Lösung versetzt.

Alle Ansätze wurden in sterilen Plastikröhrchen für 24 h im CO_2-Begasungsbrutschrank (5 % CO_2, 37° C) inkubiert. Anschließend wurden durch 10 min.Zentrifugieren (250 g) die Zellen abgetrennt.

In einem 2. Schritt wurden jeweils 3 ml des zellfreien Überstandes mit 1 ml ETS-Suspension (5 x 10^7 Zellen) für weitere 90 min. bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde dieser Messansatz in die Elektrophoresekammer eingefüllt.

2.5.3. Nullstandard

1 ml der jeweiligen ETS-Suspension wurde mit einer Mischung aus 2 ml HBSS und 1 ml RPMI 1640 Medium für 90 min. bei Zimmertemperatur inkubiert und dann im Zytopherometer gemessen. Dieser Nullstandard dient nach Porzsolt (1975a) als Bezugsgröße für die jeweiligen Testansätze eines Tages.

2.6. Messungen und Berechnungen

Alle Meßansätze (ETS + zellfreier Überstand aus Testansatz und Leeransatz; Nullstandard) wurden nach der Inkubation in einem Zytopherometer (C.Zeiss, Oberkochem) gemessen. Das "Herzstück" der trägerfreien Zellelektrophorese ist die Meßkammer, in welche die zu messende Zellsuspension eingefüllt wird. Über ein Elektrodensystem wird an diese Kammer eine Spannung (s.u.) angelegt. In dem entstehenden elektrischen Feld wandern die Messpartikel (hier die ETS). Sie werden durch ein festinstalliertes Mikroskop im Phasenkontrast (500 x Vergrößerung) beobachtet.
Für die Messung wird eine sog. stationäre Ebene berechnet

und im Mikroskop eingestellt. ETS, die sich nicht in dieser Ebene befinden (unscharfe Abbildung) oder sie während der Messung verlassen, können für die Messung nicht verwendet werden.

Wir maßen bei einer Stromstärke von 6 mA (ungefähr 120 V); die Kammer war auf konstant 23° C temperiert. Im Strahlengang des Mikroskops befindet sich ein Netzmikrometer, welches das Beobachtungsfeld in gleiche Quadrate teilt.

Gemessen werden die Zeiten, die ein einzelner ETS benötigt, um die definierte Strecke eines Quadrates (16 micrometer) in beide Richtungen (durch Umpolen) zu durchwandern. Durch das Umpolen sollen fast immer vorhandene, geringe Strömungen in eine Wanderrichtung ausgeschaltet werden. Die Messungen können erst begonnen werden, wenn die ETS ohne angelegte Spannung bewegungslos in der Messkammer stehen. Zum Messen der Zeiten benutzten wir eine Stoppuhr mit einer Ablesegenauigkeit von 0,1 sec.

Für jede Probe wurden 10 ETS in beiden Richtungen gemessen (20 Einzelmeßwerte).

Aus diesen 20 Werten wurden arithmetisches Mittel und Standardabweichung jeder Probe errechnet. Das Ergebnis wurde auf den jeweiligen Nullstandard eines Tages bezogen:

$$H = \frac{\bar{t}_t - \bar{t}_o}{\bar{t}_o}$$

H = relative Hemmung ; $\bar{t}_t$ = mittlere Zeit der Probe; $\bar{t}_o$ = mittlere Zeit des Nullstandards).

Für die verschiedenen Gruppen wurden Mittelwerte und Standardabweichungen ausgerechnet und die Mittelwerte in einer Varianzanalyse verglichen.

2.7. Spontanrosetten

2.7.1. Lymphozytenisolierung

Es wurden die für den EMT angesetzten Lymphozytensuspensionen verwendet (5 x 10^6 Zellen/ml; vgl. 2.2.).

2.7.2. Hammelerythrozyten

Von 2 ml konserviertem Hammelblut (Behring AG,Marburg) wurden die Erythrozyten abzentrifugiert, die Stabilisatorlösung abgegossen und die Zellen 1 x in physiolog. NaCl-Lösung und 1 x in HBSS gewaschen. Sie wurden dann in 8 ml HBSS mit 20 %igem Zusatz von fetalem Kälberserum (FKS) und einem pH von 7,8 (durch Zugabe von 1 - 2 Tropfen 0,1 n NaOH pro 100 ml HBSS) resuspendiert (8 x 10^7 Zellen / ml).

2.7.3. Versuchsansatz

0,1 ml Lymphozytensuspension wurden nach Zugabe von

0,1 ml Erythrozytensuspension und
0,3 ml HBSS mit 20 %igem FKS-Zusatz und pH 7,8 für 5 min. bei 250 g zentrifugiert und anschließend über Nacht bei 4° C inkubiert.

2.7.4. Auswertung

Der Überstand wurde abgegossen und die Zellen nach Zugabe von 0,15 ml FKS durch vorsichtiges Rollen des Reagenzgläschens zwischen den Handflächen resuspendiert. Von 0,05 ml dieser Resuspension wurde ein Ausstrich angefertigt, der luftgetrocknet nach Pappenheim gefärbt wurde.

Die Rosetten wurden mit dem Immersionsobjektiv (500 x) ausgezählt, wobei als Rosette 1 Lymphozyt mit wenigstens 3 angelagerten Hammelerythrozyten definiert wurde. Agglutinierte Zellen wurden nicht berücksichtigt. Es wurden je 200 Lymphozyten ausgezählt, und das Ergebnis in % Rosetten angegeben. Aus diesem Wert der Leukozytenzahl/ml Blut und dem relativen Anteil der Lymphozyten im Differentialblutbild wurde die absolute Anzahl der rosettenbildenden Lymphozyten/ml Blut errechnet.

Für die einzelnen Patientengruppen wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet und die Mittelwerte in einer Varianzanalyse miteinander verglichen.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse des EMT

3.1.1. Nullstandard

Die Wanderzeiten der ETS-Indikatorpartikel im Nullstandard betrugen im Mittel 4,0 ± 0,4 sec.($\bar{x}$ ± s ; n = 49).

3.1.2. Leeransätze

Bei 5 Gesunden, 10 Patienten mit Verdacht auf Melanom (in 6 Fällen später bestätigt) und 9 Psoriatikern wurde neben Nullstandard und Testansatz auch je ein Leeransatz bestimmt (vgl. 2.5.2.). Für die Nullstandarde ergab sich eine mittlere Wanderzeit von 3,71 ± 0,4 sec. ($\bar{x}$ ± s ; n = 24), für die Leeransätze 3,74 + 0,5 sec. ($\bar{x}$ ± s ; n = 24) (vgl. Tab.1.). Bezogen auf ihren jeweiligen Nullstandard lagen die Leeransätze im Bereich der Meßgenauigkeit (s.3.1.3.) zwischen + 9,7 % und - 5,6 %.

3.1.3. Meßgenauigkeit

Die Standardabweichungen aller mit dem Zytopherometer durchgeführten Messungen betrugen im Mittel 6,7 ± 3,7 % ($\bar{x}$ ± s ; n = 158). Die Standardabweichungen der letzten 10 Messungen betrugen im Mittel 4,3 ± 1,5 % gegenüber denen der ersten 10 mit 9,7 ± 3,7 %.

3.1.4. Testergebnisse

3.1.4.1. Gesunde Personen

Die Messungen ergaben bei 28 klinisch Gesunden einen Mittelwert von 8,5 ± 6,3 % ($x \pm s$). In keinem Fall trat eine Beschleunigung auf (vgl. Tab. 2 ; Abb 1 u.2).Bei einem oberen Grenzwert von 10 % Hemmung (Porzsolt 1975a) für Normalpersonen fanden wir 8 falsch positive Ergebnisse. Bei 2 Proben mit Ergebnissen über 20 % (Nr. 55 u. 58 in Tab. 2) bestand Verdacht auf einen Systemfehler. Wurden diese beiden Werte nicht berücksichtigt, ergab sich für die Gesunden ein Mittelwert von 7,3 ± 4,9 %.
Das Durchschnittsalter der Normalpersonen lag bei 28 Jahren (18 - 58 J.).

3.1.4.2. Melanompatienten

Die Lymphozyten der Patienten mit einem histologisch gesicherten malignen Melanom (vgl. 2.1.) bewirkten eine Migrationshemmung der Indikatorzellen, die im Mittel 20,9 ± 9,4 % betrug ($\bar{x} \pm s$; $n = 23$) (vgl. Tab. 3 u. Abb. 1 u. 2). Dabei waren 2 falsch negative Ergebnisse (weniger als 10 % Hemmung) (Porzsolt 1975a) enthalten.

Alle Patienten befanden sich klinisch im Stadium I, das heißt, es waren keine Metastasen des Primärtumors nachweisbar.

Die m M wurden nach Clark et al. (1969) in 3 Typen unterteilt:

1. superfiziell spreitendes Melanom (ssm; n = 10)
2. noduläres Melanom (nm ; n = 8)
3. lentigo maligna melanoma (lmm ; n = 5)
   (mM auf Melanosis circumscripta praeblastomatosa Dubreuilh).

Die Häufigkeit der einzelnen Melanomtypen in unserem Krankengut entsprach den von Hermanek et al. (1976) aus Literaturangaben errechneten Durchschnittswerten (ssm : 32 - 55 %; nm : 32 - 48 %; lmm : 10 - 21 %).

Wir fanden keinen Zusammenhang zwischen Tumortyp und Stärke der Hemmung im EMT (Tab. 4 - 6).

Ferner wurden die Melanome nach der histologischen Eindringtiefe in 3 Gruppen unterteilt :

1. Level I und II (nach Clark et al., 1969): Beschränkung des Tumors auf die Epidermis bzw. Eindringen in das Stratum papillare des Corium (n = 5).
2. Level III : Tumorzellen füllen das Stratum papillare aus, noch kein Eindringen in das Stratum reticulare (n = 11).
3. Level IV und V : Invasion der Tumorzellen in das Stratum reticulare bezw. Eindringen in die Subcutis (n = 7) .

Die Invasionstiefe ist nach Ansicht zahlreicher Autoren (6, 12, 41, 82) der ausschlaggebende prognostische Faktor.

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen Eindringtiefe des Melanoms und Ausprägung der Ergebnisse im EMT nachweisen (vgl. Tab. 7 - 9).

Das Durchschnittsalter der Melanompatienten mit einem ssm lag mit 44 Jahren deutlich niedriger als das der lmm-Patienten (62 Jahre)(vgl. Tab.4 - 6). Dies stimmt mit den Literaturangaben über die Altersverteilung der verschiedenen Melanomtypen überein (23, 46). Auch die Geschlechtsverteilung (13 Frauen, 10 Männer) entspricht den Angaben über eine größere Häufigkeit des m M bei Frauen (6, 23, 57).

Ein Zusammenhang zwischen Geschlecht und Ausprägung der Ergebnisse im EMT war nicht nachweisbar : Mittelwert bei weiblichen Patienten : 21,9 $\pm$ 10,0 % Hemmung ($\bar{x} \pm s$; n = 13) ; Mittelwert bei männlichen Patienten : 19,5 $\pm$ 8,9 % Hemmung ($\bar{x} \pm s$; n = 10).

Die mittlere Migrationshemmung bei Melanompatienten unterschied sich signifikant (p = 0,025) von der bei gesunden Kontrollpersonen. Gegenüber dem Mittelwert der Kontrollgruppe von Psoriatikern (vgl. 3.1.4.3) war kein signifikanter Unterschied nachzuweisen.

Bei 11 Patienten erwies sich der klinische Verdacht auf ein m M histologisch als falsch. Die Migrationshemmung betrug in dieser Gruppe im Mittel 17,6 $\pm$ 11,5 % ($\bar{x} \pm s$; n = 11). Ein signifikanter Unterschied zu dem Mittelwert bei Melanompatienten war nicht nachzuweisen.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse von diesen Patienten zeigen die Tab. 10 und die Abb. 1 u. 2.

3.1.4.3. Psoriatiker

Der EMT ergab bei 16 Psoriatikern eine mittlere Migrationshemmung von 15,8 ± 6,7 % ($\bar{x}$ ± s) (Tab. 11). Die Verminderung der Wandergeschwindigkeit gegenüber der der Normalpersonen erwies sich in der Varianzanalyse als signifikant (p = 0,025).

Eine Beziehung zwischen Geschlecht und Ausprägung der Ergebnisse war nicht herzustellen : Mittelwert bei weiblichen Patienten : 15,1 ± 5,2 % ($\bar{x}$ ± s; n = 5) ; bei männlichen Patienten : 16,0 ± 7,4 % ($\bar{x}$ ± s ; n = 11).

Das Durchschnittsalter der Psoriatiker betrug 41 Jahre (17 - 64 J.).

Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse des EMT zeigen die Abbildungen 1 u. 2.

3.2. Ergebnisse des Rosettentests

3.2.1. Gesunde Personen

Im Mittel bildeten 56 ± 8 % ($\bar{x}$ ± s; n = 28) (vgl.Tab.2) der Lymphozyten im peripheren Blut der gesunden Kontrollpersonen Spontanrosetten mit Schaferythrozyten. Nimmt man für Gesunde einen Normwert von 2300 Lymphozyten/ ml Blut an, so ergibt sich mit dem genannten Wert eine

absolute Anzahl von 1300 rosettenbildenden Lymphozyten pro ml Blut.

Zwischen Rosettenzahl und Geschlecht bestand keine Beziehung :

Frauen : 58 ± 11 % ($\bar{x}$ ± s; n = 9);
Männer : 54 ± 7 % (n = 19).

3.2.2. Melanompatienten

Der mittlere Prozentsatz an Spontanrosetten betrug bei Melanompatienten 49 ± 11 % ($\bar{x}$ ± s ; n = 23)(vgl. Tab.3). Die Verminderung gegenüber den Werten der gesunden Kontrollpersonen war signifikant (p = 0,05). Der relativen Verminderung an Spontanrosetten entsprach ein Abfall der absoluten Zahl von 1300 auf 930 ± 373 Ros./ml Blut ($\bar{x}$ ± s ; n = 23)(vgl. Tab.3). Eine Beziehung zwischen der Anzahl der rosettenbildenden Lymphozyten und Alter, Geschlecht oder Eindringtiefe des Tumors war nicht nachweisbar :

Frauen : 1002 ± 450 Ros./ml Blut ($\bar{x}$ ± s;n = 13);
Männer : 834 ± 240 Ros./ml Blut (n = 10).

Level I und II : 874 ± 63 Ros./ml Blut (n = 5); +)
Level III : 980 ± 322 Ros./ml Blut (n = 11);
Level IV und V : 893 ± 570 Ros./ml Blut (n = 7);
+)(vgl. 3.4.2.)

Alter 20-40 J. : 788 ± 277 Ros./ml Blut (n = 5);
Alter 41-60 J. : 926 ± 307 Ros./ml Blut (n = 11);
Alter 61-80 J. : 1012 ± 543 Ros./ml Blut (n = 7).

Patienten mit einem ssm (vgl. 3.1.4.2.) zeigten den im

Mittel niedrigsten Prozentsatz an Spontanrosetten (46 ± 10 %; n = 5), während die Ergebnisse der Patienten mit einem 1mm am höchsten lagen (58 ± 10 %; n = 5) (vgl. Tab. 4 - 6). Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Melanomtypen waren in der Varianzanalyse jedoch nicht signifikant.

In der Gruppe von Patienten, bei denen sich die klinische Verdachtsdiagnose histologisch als falsch erwies, ergab sich ein Mittelwert von 50 ± 8 % bzw. 794 ± 252 Rosetten/ ml Blut ($\bar{x}$ ± s ; n = 11). Der Unterschied zum Mittelwert von Melanompatienten war nicht signifikant (p = 0,025). Auch beim Vergleich der Mittelwerte von Melanompatienten und der Kontrollgruppe der Psoriatiker (vgl. 3.2.3) ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

3.2.3. Psoriatiker

Der Anteil rosettenbildender Zellen war mit 50 ± 8 % ($\bar{x}$ ± s; n = 16) (vgl. Tab.11)gegenüber den gesunden Kontrollpersonen mäßig, aber signifikant vermindert (p =0,005). Der relativen entsprach eine absolute Verminderung auf 995 ± 304 Ros./ml Blut.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse des Rosettentests zeigen die Abbildungen 3 u. 4.

3.3. Tabellen und Abbildungen

Tab. 1 : Gegenüberstellung der EMT-Ergebnisse von Nullstandard, Leeransatz und Testansatz bei 24 Patienten.

Nr.	$t_{0\text{-St.}}$	t_{Leer}	$\frac{t_{Leer}-t_{0\text{-St.}}}{t_{0\text{-St.}}}$ in%	t_{Test}	Diagnose
59	4,1	4,5	+ 9,7	5,4	Basaliom
60	4,1	4,1	0,0	4,5	N
61	4,0	4,3	+ 7,5	4,8	P
62	4,0	4,2	+ 5,0	5,1	P
63	3,8	3,9	+ 2,6	4,0	N
64	3,8	3,8	0,0	4,1	N
65	4,0	3,8	- 5,0	5,1	Hämatom
66	4,0	4,0	0,0	5,2	Basaliom
67	4,0	3,9	- 2,5	4,5	P
69	4,5	4,8	+ 6,7	5,2	M
70	4,0	4,0	0,0	4,7	M
73	3,9	3,9	0,0	4,0	N
76	3,9	4,0	+ 2,6	4,5	M
77	3,1	3,0	- 3,3	3,7	P
78	3,1	3,0	- 3,3	3,7	P
82	3,4	3,6	+ 2,9	3,4	N
83	3,1	3,2	+ 3,2	3,9	M
84	3,1	3,1	0,0	3,9	P
85	3,6	3,6	0,0	3,8	M
86	3,6	3,5	- 2,8	4,1	NZN
87	3,6	3,4	- 5,6	4,0	P
88	3,6	3,4	- 5,6	4,1	P
89	3,4	3,3	- 2,9	4,0	M
91	3,5	3,5	0,0	4,2	P

N : gesunde Personen; P : Psoriasis; M : Melanom

$t_{0\text{-St.(Leer,Test)}}$ = durchschnittliche Wanderzeit der ETS im Nullstandard (bzw.Leeransatz, Testansatz) in Sekunden.

$\frac{t_{Leer}-t_{0\text{-St.}}}{t_{0\text{-St.}}}$ = relative Hemmung des Leeransatzes bezogen auf den jeweiligen Nullstandard

NZN : Naevuszellnaevus

Tab. 2 : Ergebnisse des EMT und des Rosettentests bei gesunden Personen .

Nr.	Geschl.	Alter (Jahre)	% Hemmung im EMT	% rosettenb. Lymphozyten
4	w	23	3,2	57
12	w	35	5,0	78
13	w	22	18,4	59
14	w	22	13,1	49
15	w	31	6,0	71
22	w	28	3,6	64
29	w	22	10,9	40
39	w	22	3,1	53
45	w	54	18,7	51
3	m	27	2,1	52
5	m	22	6,0	49
10	m	29	2,1	60
11	m	28	5,0	52
16	m	28	10,8	58
18	m	26	2,8	56
19	m	37	3,0	55
20	m	29	4,3	45
21	m	30	6,7	55
30	m	23	5,9	40
38	m	23	17,1	57
44	m	58	8,0	47
55	m	22	21,9	60
58	m	18	25,0	50
60	m	35	9,1	53
63	m	23	6,8	53
64	m	22	7,6	65
73	m	24	4,7	61
82	m	27	7,3	64
n = 28		28(18- 58)	$\bar{x} \pm s$: 8,5 ± 6,3	56 ± 8

Tab. 3 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Melanompatienten (ssm, nm, lmm, Level I-V) (vgl. 3.1.4.2).

Nr.	Geschl.	Alter (Jahre)	Typ	Level	%Hemmung	%Rosetten	Rosett./ ml Blut
7	w	34	nm	III	27,9	55	1216
8	w	28	ssm	III	40,5	47	744
23	w	65	nm	III	6,6	56	1139
25	w	37	ssm	I	16,6	56	540
27	w	45	ssm	III	10,5	53	937
36	w	50	nm	V	30,3	51	864
42	w	68	ssm	IV	30,4	44	759
70	w	50	nm	III	17,0	51	1611
75	w	64	lmm	IV	18,9	65	2154
76	w	38	ssm	IV	13,8	36	564
81	w	56	lmm	II	15,1	47	773
83	w	23	ssm	III	24,3	38	877
92	w	65	nm	IV	33,3	33	665
6	m	56	nm	III	11,0	53	712
32	m	78	lmm	IV	32,5	47	615
40	m	56	ssm	I	32,7	66	873
41	m	56	ssm	III	10,6	31	516
52	m	43	ssm	III	7,7	49	769
54	m	54	lmm	III	14,7	63	1370
69	m	64	nm	II	17,2	36	907
80	m	74	nm	V	23,6	63	850
85	m	49	ssm	III	26,4	37	886
89	m	58	lmm	II	18,8	68	877
n = 23		53(23-78)			$\bar{x} \pm s$: 20,9 ± 9,4	49 ± 11	930 ± 373

Tab. 4 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom vom superficial-spreading-Typ (ssm).

Nr.	Geschl.	Alter	Level	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
8	w	28	III	40,5	47	744
25	w	37	I	16,6	56	540
27	w	45	III	10,5	53	937
42	w	68	IV	30,4	44	759
76	w	38	IV	13,8	36	564
83	w	23	III	24,3	38	877
40	m	56	I	32,7	66	873
41	m	56	III	10,6	31	516
85	m	49	III	7,7	49	886
52	m	43	III	26,4	37	769
n = 10		44(23-68)		$\bar{x} \pm s$: 21,4 ± 11,0	45 ± 10	765 ± 164

Tab. 5 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom vom nodulären Typ (nm).

Nr.	Geschl.	Alter	Level	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
7	w	34	III	27,9	55	1216
23	w	65	III	6,6	56	1139
36	w	50	V	30,3	51	864
70	w	50	III	17,0	51	1611
92	w	65	IV	33,3	33	665
6	m	56	III	11,0	53	712
69	m	64	II	17,2	36	907
80	m	74	V	23,6	63	850
N = 8		57(34-74)		$\bar{x} \pm s$: 20,9 ± 9,0	49 ± 10	996 ± 313

Tab. 6 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom vom Lentigo-maligna-Typ (1mm).

Nr.	Geschl.	Alter	Level	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
75	w	64	IV	18,9	65	2154
81	w	56	II	15,1	47	773
32	m	78	IV	32,5	47	615
54	m	54	III	14,7	63	1370
n = 5		62(54-78)		$\bar{x} \pm s$: 20,7 $\pm$ 7,0	58 $\pm$ 10	1158 $\pm$ 197

Tab. 7 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom der Eindringtiefe I und II .

Nr.	Typ	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
25	ssm	16,6	56	540
40	ssm	32,7	66	873
69	nm	17,2	36	907
81	1mm	15,1	47	773
89	1mm	18,8	68	877
n = 5		$\bar{x} \pm s$: 20,0 $\pm$ 7,0	54 $\pm$ 13	874 $\pm$ 62

Tab. 8 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom der Eindringtiefe III.

Nr.	Typ	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
7	nm	27,9	55	1216
8	ssm	40,5	47	744
23	nm	6,6	56	1139
27	ssm	10,5	53	937
70	nm	17,0	51	1611
83	ssm	24,3	38	877
6	nm	11,0	53	712
41	ssm	10,6	31	516
52	ssm	26,4,	37	769
54	lmm	14,7	63	1370
85	ssm	7,7	49	886
n = 11		$\bar{x} \pm s$: 17,9 ± 10,0	48 ± 9	980 ± 322

Tab. 9 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einem Melanom der Eindringtiefe IV und V.

Nr.	Typ	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ ml Blut
42	ssm	30,4	44	759
76	ssm	13,8	36	564
75	lmm	18,9	65	2154
32	lmm	32,5	47	615
92	nm	33,3	33	665
36	nm	30,3	51	864
80	nm	23,6	63	850
n = 7		$\bar{x} \pm s$: 26,1± 7,5	48 ± 12	893±570

Tab. 10 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten, bei denen sich der Verdacht auf ein malignes Melanom histologisch nicht bestätigte.

Nr.	Geschl.	Alter	Histolog. Diagnose	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ml Blut
9	w	69	solides Basaliom	0,0	53	633
17	w	13	cutaner Neavuszellnaevus	4,5	56	696
26	w	41	Naevus coeruleus	12,3	57	1154
31	w	64	junktionaler Neavuszellnaevus	3,9	43	1110
34	w	36	subunguales Hämatom	28,7	35	727
59	w	45	pigmentiertes Basaliom	30,3	56	677
66	w	60	pigmentiertes Basaliom	30,3	57	612
79	w	22	Angiom	25,4	44	440
24	m	47	Lentigo maligna	12,9	61	-
65	m	66	subunguales Hämatom	27,2	48	753
86	m	49	cutaner Naevuszellnaevus	18,1	40	1142
n = 11		47(13-69)	$\bar{x} \pm s$:	17,6 ± 11,5	50 ± 8	794 ± 252

Tab. 11 : Ergebnisse von EMT und Rosettentest bei Patienten mit einer Psoriasis vulgaris.

Nr.	Geschl.	Alter	%Hemmung	%Rosetten	Rosetten/ml Blut
46	w	41	11,6	45	920
47	w	58	10,5	48	846
78	w	64	18,4	49	1059
84	w	39	22,5	40	843
87	w	14	12,4	47	617
48	m	47	1,6	57	741
49	m	33	5,3	55	1132
51	m	52	14,5	39	717
53	m	34	21,1	45	1625
61	m	17	20,4	58	1300
62	m	50	27,3	57	1026
67	m	55	11,8	70	1255
77	m	39	18,7	51	1032
88	m	50	15,8	54	1477
91	m	26	19,9	44	772
93	m	40	20,2	44	559
n = 16		41(14-64)	$\bar{x} \pm s$: 15,8 ± 6,7	50 ± 8	995 ± 304

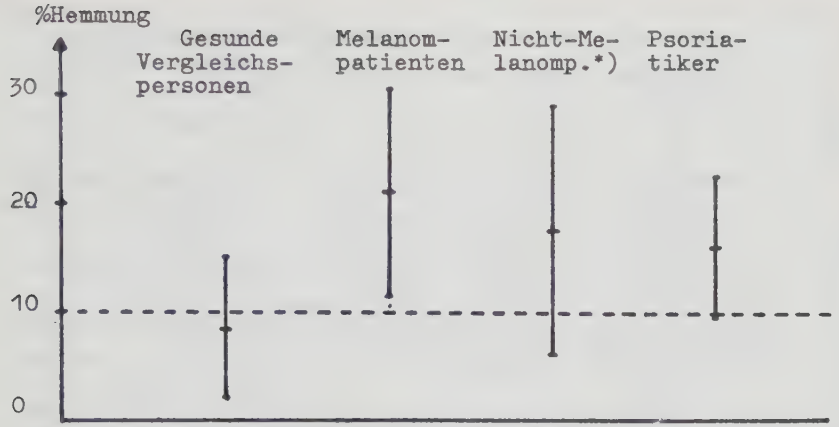

Abb. 1 : Gegenüberstellung der EMT-Ergebnisse in den untersuchten Gruppen. Angegeben ist die mittlere prozentuale Migrationshemmung in Relation zum Nullstandard ($\bar{x} \pm s$).
*) Patienten, bei denen sich der Verdacht auf ein m M histologisch nicht bestätigte.

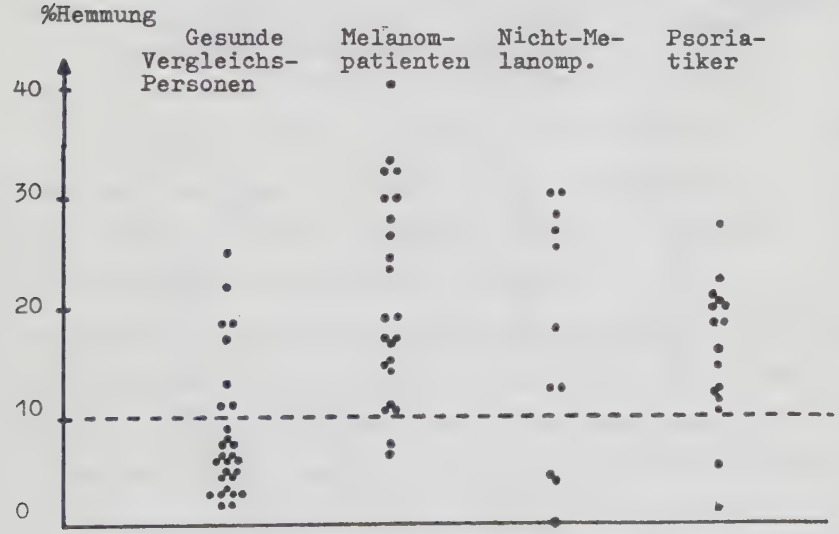

Abb. 2 : Gegenüberstellung der EMT-Ergebnisse.
(Einzelergebnisse in Relation zum Nullstandard).

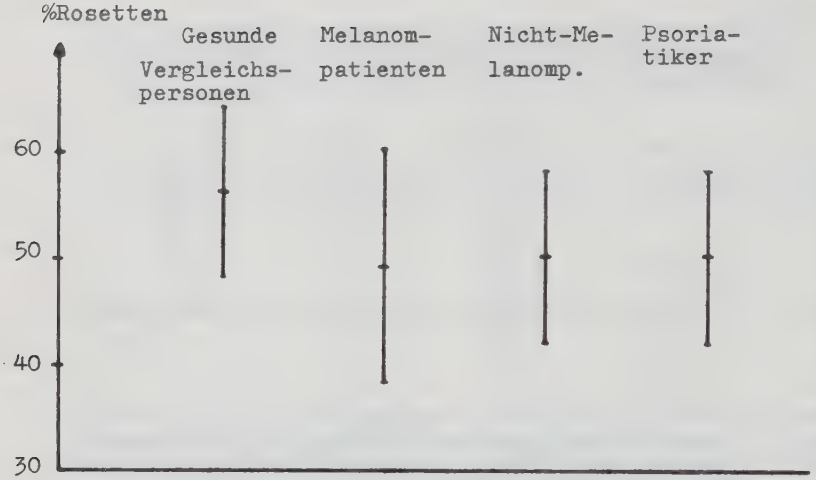

Abb. 3 : Gegenüberstellung der Ergebnisse des Rosetten-tests bei den verschiedenen Gruppen. Angegeben ist der mittlere prozentuale Anteil rosetten-bildender Zellen ($\bar{x}$ + s).

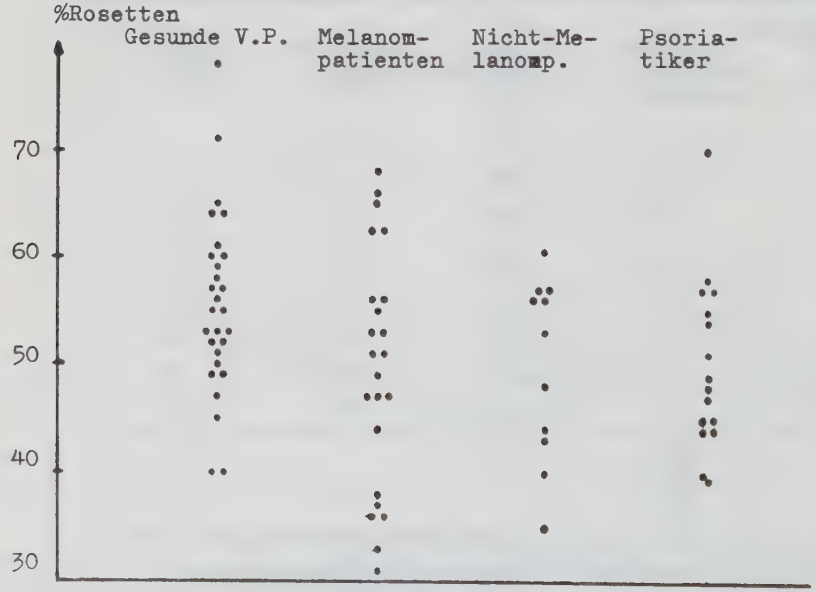

Abb. 4 : Gegenüberstellung der Einzelergebnisse des Rosettentests.

4. Diskussion

4.1. Zur Immunologie des malignen Melanoms

Mit der Immunologie des malignen Melanoms befaßt sich eine Vielzahl von Veröffentlichungen. Als Übersichten seien die Arbeiten von Misgeld (1973), Sober (1976) und Schieferstein (1975) genannt. An dieser Stelle sollen nur einige Befunde angeführt werden, die die Besonderheit des m M zeigen:

1) Auftreten von lokalen Rückbildungen innerhalb der Primärläsion (13, 46),
2) Spontanremissionen (38, 82),
3) lymphozytäres Infiltrat innerhalb oder in der Umgebung des Primärtumors (30),
4) längere Zeiträume ohne Tumorwachstum oder ohne das Auftreten von Metastasen (13, 78),
5) unaufhaltbares Fortschreiten der Krankheit.

Diese Befunde können als Ausdruck einer unterschiedlichen Immunkompetenz der Erkrankten oder einer variablen Antigenität des Tumors aufgefaßt werden (46).

Aufgrund von experimentellen Untersuchungen kann mit sehr großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß der Träger eines m M eine zelluläre Immunabwehr entwickelt (28, 46, 59, 86). Inhomogene Patientenkollektive (unterschied-

liche klinische Stadien, verschiedene Melanomtypen) und das Fehlen von standardisierten Methoden haben zu einigen widersprüchlichen Ergebnissen geführt.

4.2. Die Entwicklung und einige Ergebnisse des EMT

Die in-vitro-Verfahren zum Nachweis von zellulären Immunreaktionen umfassen neben Zytotoxizitäts- und Lymphoproliferationstests eine Gruppe von Verfahren, die auf Lymphokinreaktionen beruhen. Zu diesen zählt der EMT, der aus dem Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts (MEM-) Test (Field u.Caspary, 1970) entwickelt wurde. Der MEM-Test weist ein Lymphokin (Mediator) nach, das beim Kontakt von spezifisch sensibilisierten Lymphozyten mit einem (aus normalem menschlichen Gehirn gewonnenen) Antigen (EF) freigesetzt wird. Dieses Lymphokin verlangsamt die Wandergeschwindigkeit von Makrophagen in einem elektrischen Feld (deshalb macrophage slowing factor , MSF) und kann damit in einer Zellelektrophorese indirekt nachgewiesen werden.

Überraschenderweise konnten Field u.Caspary (1970) MSF nicht nur bei Patienten mit multipler Sklerose oder degenerativen Nervenerkrankungen nachweisen, sondern auch bei Tumorpatienten, die sie zum Vergleich untersucht hatten. 1971 gelang es ihnen,ein Protein mit stärkerer Antigenität als EF aus Tumorgeweben zu extrahieren (cancer basic protein)(9).Sie schlossen daraus, daß auf der Oberfläche

von Tumorzellen neue Antigene auftreten, die mit dem EF verwandt sind und im MEM-Test nachgewiesen werden können (17, 18, 24). Der Test schien damit eine Aussage über das Vorliegen eines Tumors bei einem Patienten zu ermöglichen. Field u.Caspary (1970) fanden keine Überlappung der Ergebnisse von Tumorpatienten und Gesunden (hohe Spezifität und Sensitivität).

Diese Vermutungen wurden durch zahlreiche Untersucher bestätigt (31, 42, 58, 70). Lewkonia et al.(1974) fanden jedoch keine klare Trennung zwischen benignen und malignen Erkrankungen und starke Streuungen bei wiederholtem Untersuchen einer Person. Zu gleichem Ergebnis kamen auch Crozier et al.(1976).

Die Verwendung von Meerschweinchenmakrophagen ist methodisch äusserst aufwendig (67, 84). Inerte Teilchen (Latex) oder frische Erythrozyten können nicht verwendet werden (8). Porzsolt et al.(1975 a+b) konnten jedoch zeigen,daß tannierte und sulphosalicylierte Hammelerythrozyten (ETS) (s.2.4.) die Makrophagen ersetzen können.

Das neue Verfahren wurde Elektrophorese-Mobilitäts-Test (EMT) genannt. Die Ergebnisse mit dem EMT bei Malignomen verschiedenster Genese wiesen eine Sensitivität und Spezifität von über 90 Prozent auf (19-22, 61, 83, 84, u.a.).

Unter den von Laier (51) untersuchten Tumorpatienten waren

2 Melanompatienten mit schwach positiven Ergebnissen im EMT. Rahi et al. (1976) untersuchten mit dem MEM-Test Patienten mit Melanomen des Auges. Sie konnten mit dem Test nicht klar zwischen Tumoren und entzündlichen Erkrankungen des Auges unterscheiden.

4.3. Eigene Ergebnisse

Um ein möglichst einheitliches Kollektiv zu erhalten, untersuchten wir nur Patienten im klinischen Stadium I (Primärtumor ohne klinisch nachweisbare Metastasen). Allerdings kann eine frühzeitige Mikrometastasierung in die regionalen Lymphknoten nicht ausgeschlossen werden (62, 89). Mit 2 Ausnahmen wurden alle Patienten vor der Excision des Tumors (damit vor der histologischen Diagnosestellung) untersucht.

Die elektrophoretische Wandergeschwindigkeit der Testpartikel war im Mittel bei Melanompatienten gegenüber den Vergleichspersonen signifikant vermindert. Es ist deshalb eine spezifische Sensibilisierung der Lymphozyten von Melanompatienten gegen EF anzunehmen.

Mit 2 falsch negativen Ergebnissen bei 23 Melanompatienten (Sensitivität von rund 90 %) sind unsere Ergebnisse denen anderer Untersucher bei verschiedenen Tumoren vergleichbar (60, 83). Bei den falsch negativen Ergebnissen (Nr.23 u.52 in Tab.3.) handelte es sich um je einen

Tumor vom ssm- und nm-Typ. Beide Tumoren hatten die Eindringtiefe III erreicht. Bei dem ssm-Patienten war außerdem die Zahl der thymusabhängigen Lymphozyten (s.u.) deutlich vermindert (769/ml Blut). Das negative Ergebnis im EMT könnte damit Ausdruck einer verminderten Immunabwehr dieser Patienten sein.

Trotz der wenigen falsch negativen Ergebnisse fanden wir eine deutliche Überlappung der Werte von Melanompatienten und Vergleichspersonen. Dafür bieten sich mehrere Erklärungsmöglichkeiten an :

1) Die klare Trennung bei anderen Untersuchern beruht auf einer Beschleunigung der ETS bei Normalpersonen (z.B. Mittelwert bei Porzsolt et al. , 1975b: - 11,6 ± 7,5%).
   Demgegenüber fanden wir bei keiner einzigen Vergleichsperson eine Beschleunigung. Daraus ergibt sich eine wesentlich stärkere Überlappung mit den Werten der Melanompatienten. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch Lewkonia et al. (1974).
2) Möglicherweise sind solche unterschiedlichen Normwerte durch Unterschiede der verwendeten Antigenpräparationen zu erklären.
3) Falsch positive Ergebnisse könnten auch durch einen toxischen Effekt des verwendeten EF bedingt sein (77).
4) Unklar ist die Bedeutung verschieden starker Verunreinigungen der Lymphozytensuspensionen

durch Granulozyten und Makrophagen (Monozyten).

Im Zusammenhang mit der BCG-Therapie des m M wird die Vermutung diskutiert, daß die Mitwirkung von Makrophagen für die Abgabe von Lymphokinen notwendig ist. Dabei nehmen die Makrophagen das Antigen auf und wandeln es in eine immunogene Form um, um es den Lymphozyten zu präsentieren, deren Aktivierung die Folge ist (Wätzig 1977). Da der EMT auf einer Lymphokinreaktion basiert, ist die Mitbeteiligung von Makrophagen zumindest denkbar.

Auch aus zerfallenen Granulozyten freigesetzte Proteasen könnten den EMT stören.

5) Die Aufstellung von Normwerten bei einem Malignitätstest beinhaltet einige grundsätzliche Probleme. Eine klinische Untersuchung kann eine Tumorerkrankung bei einer gesunden Vergleichsperson nicht sicher ausschließen. Pritchard et al. (1976) fanden bei 13 unerklärten falsch positiven Ergebnissen eine Alters- und Geschlechtsverteilung, die mit der von den Krebsstatistiken vorhergesagten übereinstimmte. Sie schlossen daraus, daß mit dem MEM-Test ein Tumor rund 16 Jahre vor seinem klinischen Auftreten nachgewiesen werden könnte. Bei der Häufigkeit von Tumorerkrankungen (63) ergibt sich damit die Schwierigkeit, überhaupt "gesunde Vergleichspersonen" auszuwählen. Hinzu kommt, daß möglicherweise schon Präkanzerosen zu einem positiven Ergebnis im EMT führen können (68).

6) Schließlich führen nicht nur Tumorerkrankungen, sondern auch akute Virusinfektionen zu positiven

Testergebnissen. Dazu zählen Masern, Mumps, Virusmeningitis und Encephalitis, Hepatitis und akute grippale Infekte (81, 83, 84). Allerdings zeigt der EMT eine rasche Normalisierung nach wenigen Tagen. Wir vermuten einen solchen Zusammenhang bei einer Vergleichsperson (Nr. 58 in Tab.2) mit falsch positivem Ergebnis, die wenige Tage nach dem Test an Grippe erkrankte. Beim MEM-Test ist bekannt, daß zahlreiche Erkrankungen, bei denen eine Beteiligung der zellulären Immunabwehr diskutiert wird, zu positiven Testausfällen führen : Asthma, degenerative neurologische Erkrankungen (26), aktive Tuberkulose, Sarkoidose, rheumatoide Arthritis und seltene Autoimmunerkrankungen (43).
Die Interpretation der Ergebnisse von MEM-Test und EMT muß also differentialdiagnostische Überlegungen berücksichtigen.

Bei einem Drittel der Patienten (11 von 34), deren Tumor wegen dem Verdacht auf ein malignes Melanom excidiert worden war, erwies sich dieser Verdacht histologisch als unbegründet.

In dieser Gruppe ergaben sich 8 falsch positive Ergebnisse (Tab. 10). Dazu zählt ein Patient mit einer Lentigo maligna. Porzsolt et al. (1975b) fanden bei den Vorstadien von Collumcarcinomen heterogene Ergebnisse. Sie vermuteten, daß sich die Sensibilisierung der Lymphozyten gegen EF innerhalb einer kurzen Zeit während der Vorstufen einer Tumorerkrankung entwickelt. Auf diese Weise könnte das schwach positive (11 %) Ergebnis des Lentigo-maligna-Patienten erklärt werden.

2 Patienten mit Basaliomen hatten hoch positive Ergebnisse im EMT (30 %). In der Literatur finden sich Angaben über positive Ergebnisse bei einzelnen Basaliompatienten bei Field et al. (1970 ; MEM-Test) und Tautz et al. (1977 ; EMT). Eine Sensibilisierung der Lymphozyten gegen EF beim Basaliom erscheint als möglich.

Bei einer 3. Patientin mit einem Basaliom fanden wir keine Hemmung im EMT. Bei dieser Patientin könnte eine gleichzeitig vorhandene Lymphopenie (900 Lymphozyten/ ml Blut) für das negative Ergebnis verantwortlich sein.

Faßt man diese Gruppe der Patienten, bei denen kein Melanom vorlag, mit der der gesunden Vergleichspersonen zusammen, so fanden wir bei insgesamt 39 Personen 16 falsch positive Ergebnisse (Spezifität 59 %). Wurden die 3 Basaliom- und der Lentigo-maligna-Patient nicht berücksichtigt (s.o.), so ergibt sich mit 12 falsch positiven von 35 Ergebnissen eine Spezifität von 66 %.

Bei hoher Sensitivität wies der EMT bei unserer Untersuchung von Hauttumoren eine niedrige Malignitätsspezifität auf. Da für die klinische Diagnostik eine hohe Fehlerlosigkeit der Unterscheidung Krebs/Nicht-Krebs beim einzelnen Patienten wichtiger ist als der Nachweis signifikanter Unterschiede zwischen Tumor-und Vergleichsgruppe (40), kann der EMT in der vorliegenden Form als Hilfe für die klinische Diagnostik des Melanoms wenig leisten.

Eine größere Aussagekraft ließe sich einmal durch die Kombination des EMT mit anderen "Tumortests" erreichen. Daneben gibt es die Möglichkeit, EF durch melanom-spezifische Tumorantigene zu ersetzen, wie sie von Fritz et al. (1976) in Extrakten aus Melanomen nachgewiesen werden konnten.

Weiterhin könnte mit mehreren verschiedenen Antigenen ein "Tumorprofil" (42, 60) aufgestellt werden, um damit eine bessere Abgrenzung von Gesunden und anderen Tumorpatienten zu erhalten.

Schließlich sei eine elektrophysiologische Variante des MEM-Tests genannt, bei der zum Nachweis der Lymphokinwirkung das Membranpotential von Meerschweinchenmakrophagen gemessen wird (Makrophagen-Membran-Potential-Test, MMP). Mit diesem Verfahren fanden Redmann et al. (1975, 1977) eine klare Trennung zwischen Melanom und benignen Tumoren der Haut. Diese hochempfindliche Methode ist allerdings vorläufig der Grundlagenforschung vorbehalten.

Um die Ergebnisse des EMT bei Melanomen mit denen bei einer nicht tumorösen Erkrankung der Haut vergleichen zu können, führten wir den Test bei 16 Psoriatikern durch. Wider Erwarten fanden wir bei diesen Patienten eine signifikante Migrationshemmung der ETS gegenüber den Normalpersonen und damit eine Sensibilisierung der Lymphozyten

gegen EF. Die Pathogenese der Psoriasis ist noch unklar (2). Nach Ansicht von Guilhou et al.(1976) sprechen das Auftreten von Anti-Ig G und einige Normabweichungen der Zusammensetzung der Immunglobuline im Blut von Psoriatikern für das Vorliegen eines Autoimmunprozesses. Nach Cormane et al.(1977) wird dieser durch die Freisetzung verschiedener Kerneiweiße ausgelöst, welche als Antigen wirken könnten. Die von uns gefundene Sensibilisierung könnte auf eine Verwandtschaft dieser Antigene mit EF beruhen.

4.4. Technische Probleme des EMT

4.4.1. Sterilität

Von der Blutabnahme bis zur endgültigen Inkubation des Überstandes mit ETS ist steril zu arbeiten, um eine Verunreinigung der Lymphozytenkulturen mit Bakterien während der 24 h Inkubation zu vermeiden.

4.4.2. "Driften"

Eine Ursache für das Driften der ETS in eine Richtung sind Luftblasen im Elektrophoresesystem, die sich nicht immer vermeiden lassen. Andere Ursachen sind Mikrolecks in den Membranen der Elektrophoresekammern, Temperaturdifferenzen in der Kammer (27) oder Konzentrationsgefälle in der Zellsuspension, die beim Einfüllen entstehen können.

4.4.3. Dauer der Messungen

Die gesamte Messung einer Probe sollte nicht länger als 20 min. dauern (77), bei der Einzelmessung die Spannung nicht länger als 10 sec. in einer Richtung anliegen, da sonst die Messungen infolge Ansäuerung unbrauchbar werden. Jedoch bietet das Anlegen der Spannung beim starr fixierten Mikroskop die einzige Möglichkeit, neue Zellen ins Blickfeld zu bekommen.

4.4.4. Nullstandard und Leerwert

Der Nullstandard erwies sich als nicht sehr stabil. Er war abhängig von der verwendeten ETS-Charge (77) und von der Verschmutzung der Kammer.
Nullstandard und Leerwert unterschieden sich im Mittel nicht, im Einzelfall nur innerhalb der Meßgenauigkeit (Tab. 1). Dieser etwas willkürlich gewählte Nullstandard nach Porzsolt et al. (1975a) hat den Vorteil, daß man keine Lymphozyteninkubation und nur einen Nullstandard pro Testserie benötigt. Er wird deshalb als Bezugsgröße gewählt. Mit dem Leerwert teilt er den Nachteil, daß er keine Aussage über toxische Wirkungen des verwendeten Antigens erlaubt.

4.5. Rosettentest

4.5.1. Definition

Ein bestimmter Anteil der Lymphozyten im peripheren Blut

besitzt aufgrund weitgehend spezifischer Membranrezeptoren die Eigenschaft, Erythrozyten rosettenförmig zu binden. Diese Rosettenbildung wird spontan genannt, wenn sie ohne vorherige Immunisierung des Lymphozytenspenders gegen die entsprechenden Erythrozyten erfolgt (76). Die spontane Rosettenbildung mit Schaferythrozyten wird beim Menschen für einen wahrscheinlich T-Zell-spezifischen Vorgang gehalten (76, 64, 63).

Der nachweisbare Anteil spontan rosettenbildender Lymphozyten hängt von dem als Erythrozytenspender verwendeten Schaf ab (76). Nur die Erythrozyten von 1 unter 6 Schafen können für einen aussagefähigen Rosettentest herangezogen werden (88); die Eignung ist nur empirisch feststellbar.

Außerdem sind neben Dauer und Temperaturen der verschiedenen Inkubationsschritte Unterschiede beim Zentrifugieren und Resuspendieren der Zellen und das Verhältnis von Lymphozyten, Erythrozyten und Suspensionsmedium von Einfluß auf das Ergebnis (76).

Innerhalb der noch wenig standardisierten Verfahren zeichnen sich 2 Methoden deutlich ab :

a) die Lymphozyten sind nur für wenige Minuten während einer langsamen Zentrifugation in Kontakt mit den Erythrozyten; dadurch wird wahrscheinlich

nur eine Subpopulation von T-Zellen erfaßt : sog. "aktive" T-Zellen (TEa) (88).

b) Die Lymphozyten und Erythrozyten werden für mindestens 1 h zusammen inkubiert; dabei sollen alle T-Zellen Rosetten bilden (TEt).

4.5.2. Quellenübersicht der Ergebnisse des Rosettentests bei Melanompatienten

Die Probleme des Verfahrens (s.o.) und Unterschiede der Patientenkollektive machen die widersprüchlichen Literaturangaben verständlich.

Eine Anzahl von Untersuchern fand bei erniedrigten TEa-normale TEt-Werte :

Bertoglio et al.,1977	(n = 7)
Bickhardt u.Kunze, 1974	(n = 13)
Claudy et al.,1975	(n = 52)
Grant et al., 1974	(n = 4)
Wybran u.Fudenberg, 1976	(n = 100).

Eine Erniedrigung sowohl der TEa- als auch der TEt-Werte fanden folgende Autoren:

Babusikova et al., 1976	(n = 64)
Bourgoin et al., 1975	(n = 104)
Klein et al., 1978	(n = 113)
Koziner et al., 1975	(n = 25)
Peter, 1975	(n = 21)
Pichler et al., 1976	(n = 32).

4.5.3. Eigene Ergebnisse

Wir fanden bei 23 untersuchten Melanompatienten im klinischen Stadium I einen im Mittel gegenüber den Normalpersonen

signifikant verminderten Prozentsatz von TEt. Bei der Berechnung der absoluten T-Lymphozytenzahlen pro ml Blut zeigte sich, daß der relativen eine absolute Verminderung der T-Zellen entspricht(vgl. Tab.3).

Bei den relativen und absoluten Mittelwerten zeigt sich die stärkste Abnahme der Spontanrosetten beim Melanom vom ssm-Typ, während sie für das Melanom vom lmm-Typ am geringsten ausgeprägt ist (Tab. 4 - 6). Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.Pichler et al. (1976) verneinen einen solchen Zusammenhang zwischen Melanomtyp und Abfall der Rosettenwerte.

Übereinstimmend mit diesen Autoren konnten wir auch keinen Zusammenhang zwischen histologischer Eindringtiefe und Rosettenwerten herstellen (Tab. 7 - 9). Unsere Ergebnisse sprechen in Übereinstimmung mit Koziner et al. (1975) gegen die Möglichkeit, daß die T-Zellverminderung das höhere Alter mancher Patienten widerspiegelt (vgl. 3.2.2.).

4.5.4. Ergebnisse des Rosettentests bei Psoriatikern

Es finden sich Literaturangaben sowohl über normale (37, 54, 56, 64) als auch über verminderte (15, 34, 35) TEt-Werte bei Psoriatikern. Unsere eigenen Ergebnisse zeigen eine zwar geringe, aber signifikante Abnahme der relativen und absoluten Rosettenzahlen von Psoriatikern gegenüber den Vergleichspersonen.

4.5.5. Interpretation des Rosettentests

Der fundamentale Vorgang bei der Rosettenbildung ist völlig unbekannt (53, 88); erst seine Aufklärung kann ein besseres Verständnis der Aussage der Rosettentests ermöglichen. Prinzipiell sind 2 Erklärungen möglich :

a) Der Rosettentest zeigt das Fehlen einer immunkompetenten Subpopulation der T-Lymphozyten an (quantitativer Defekt). Dies könnte eine Prädisposition für maligne Erkrankungen darstellen oder erst deren Folge sein (49, 88).

   Mit dieser Hypothese kann die Pathogenese der Psoriasis folgendermaßen erklärt werden: die verminderte T-Subpopulation ist an der Kontrolle der Antikörperbildung durch B-Zellen beteiligt, indem sie das Erkennen körpereigener Zellkernantigene aus dem Stratum basale der Haut erleichtert (34). Die (möglicherweise genetisch bedingte) Verminderung dieser "Suppressorzellen" führt zur Bildung von Antikörpern gegen Basalzellkerne (15, 33 - 35). Diese Antikörper stören die Funktion membrangebundener Enzyme, was in späteren Krankheitsstadien zu einer Störung der Keratinisation führt.

b) Der Rosettentest zeigt den Verlust der Fähigkeit an, Schaferythrozyten zu binden (qualitativer Defekt) . Dafür könnten beim m M "blockierende Faktoren" im Serum verantwortlich sein (39). Diese Faktoren (lösliche Tumorantigene, lösliche Antigen-Antikörperkomplexe) blockieren die lymphozytäre Zytotoxizität auf der Ebene der Effektorzellen, indem sie sich mit den Lymphozyten verbinden (28, 46).

5. Zusammenfassung

Mit Hilfe des Elektrophorese-Mobilitäts-Tests (EMT), der eine Vereinfachung des von Field u. Caspary (1970) entwickelten Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-Tests (MEM-Test) darstellt, konnten bei Melanompatienten schon im Stadium des Primärtumors ohne klinisch nachweisbare Metastasen gegen den encephalitogenen Faktor (EF) sensibilisierte Lymphozyten nachgewiesen werden. Dieser Befund spricht dafür, daß auch beim malignen Melanom tumorassoziierte Proteine vorkommen, die gleiche oder ähnliche antigene Eigenschaften mit dem unspezifischen EF teilen. Bei 32 Melanompatienten beobachteten wir 2 falsch negative Ergebnisse. Infolge einer großen Zahl falsch positiver Ergebnisse (16 von 39) und der damit fehlenden Abgrenzung gegen andere maligne und benigne Tumoren der Haut (Basaliome, Naevuszellnaevi, Lentigo maligna u.a.) erscheint der EMT in der vorliegenden Form als wenig hilfreich für die klinische Diagnostik des m M.

Auch bei Psoriatikern ergab der EMT positive Ergebnisse. Sie müssen als Hinweis auf eine Beteiligung zellulärer Immunreaktionen bei der Psoriasis aufgefaßt werden.

Der Spontanrosettentest mit Schaferythrozyten ergab bei Melanompatienten und Psoriatikern gegenüber den Normal-

personen geringe, aber signifikante Verminderungen der Gesamtzahl thymusabhängiger (T-) Lymphozyten (TEt). Die Bedeutung dieser Beobachtungen für die Entstehung und Ausbreitung von Melanom und Psoriasis bleibt unklar.

6. Literaturverzeichnis

1) BABUSIKOVA, O., NOVOTNA, L., SCHNEKOVA, K., TURKOVA, D., HAVRANKOVA, M. : T and B lymphocytes in malignant melanoma patients. Neoplasma 23, : 635-644 (1976)

2) BERGER, H., BICKHARDT, R., BORN, W., HUNDEIKER, M. : Psoriasis. Med. Welt 21, : 451-466 (1970)

3) BERTOGLIO, J., GERLIER, D., BOURGOIN, A., DORE, J.F., GRONNEBERG, K. : Increase in E. active rosette forming lymphocytes in melanoma patients treated with BCG. Europ. J.Cancer 13, : 321-323 (1977)

4) BICKHARDT, R., KUNZE, J. : Beiträge zur immunologischen Reaktionsbereitschaft beim malignen Melanom. Z.Hautkr. 49, : 315-333 (1974)

5) BOURGOIN, J.J., VITRIS, M., GENEVE, J. : Study of peripheral human lymphocytes forming spontaneous rosettes with sheep erythrocytes in malignant melanomas. Behring Inst.Mitt. 56, : 263-267 (1975)

6) BRAUN-FALCO, O. : Malignes Melanom der Haut aus dermatologischer Sicht. Chirurg 45, : 345-356 (1974)

7) van BROEN, B. : Über die Rolle des Immunsystems bei Krebs. Derm.Mschr. 163, : 653-654 (1977)

8) CARNEGIE, P.R., CASPARY, E.A., DICKINSON, J.P., FIELD, E.J. : The macrophage electrophoretic migration (MEM) test for lymphocyte sensitization. A study of the kinetics.
Clin.exp.Immunol. 14, : 37-45 (1973)

9) CASPARY, E.A. : The mechanism of antigen-induced electrophoretic mobility reduction of guinea-pig macrophages.
Clin.exp.Immunol. 11, : 305-309 (1972)

10) CASPARY, E.A., FEINMANN, E.L., FIELD, E.J. : Lymphocyte sensitization in asthma with special reference to nature and identity of intrinsic form.
Brit.med.J. 1, : 15-16 (1973)

11) CASPARY, E.A., FIELD, E.J. : Specific lymphocyte sensitization in cancer : Is there a common antigen in human neoplasia ?
Brit.med.J. 2, : 613-617 (1971)

12) CLARK, W.H., FROM, L., BERNARDINO, E.A., MIHM, M.C.: The histiogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin.
Cancer Res. 29, : 705-726 (1969)

13) CLARK, W.H., NATHANSON, L. : Cellular immunity in malignant melanoma.
Pigment Cell Vol. 1 : 350-359, Karger Basel 1973

14) CLAUDY, A.L., VIAC, J., PELLETIER, N., FOUAD-WASSEF, N., ALARIO, A., THIVOLET, J.: Prognostic correlations in malignant melanoma.
Europ.J.Cancer 11, : 821-827 (1975)

15) CORMANE,R.H., HUNYADI,J., HAMERLINCK,F. : Immungenetische Aspekte der Pathogenese der Psoriasis. Derm.Mschr. 163, : 885-899 (1977)

16) CROZIER,E.H., HOLLINGER,M.E., WOODEND,B.E., ROBERTSON,J.H. : An assessment of the macrophage electrophoretic mobility (MEM) test in cancer diagnosis. J.clin.Path. 29, : 608-609 (1976)

17) DICKINSON,J.P., CASPARY,E.A., FIELD,E.J.: A common tumour specific antigen.I. Restriction in vivo to malignant neoplastic tissue. Brit.J.Cancer 27, : 99-105 (1973)

18) DICKINSON,J.P., McDERMOTT,J.R., SMITH,J.K., CASPARY,E.A. : A common tumour specific antigen.II. Further characterization of the whole antigen and of a cross-reacting antigen of normal tissue. Brit.J.Cancer 29, : 425-432 (1974)

19) DOUWES,F.R., BANDLOW,G. : Immundiagnostik gastrointestinaler Malignome :Elektrophorese-Mobilitäts-Test (EMT). Diagn.und Intensivth. 3, : 5-8 (1978)

20) DOUWES,F.R., HANKE,R., MROSS, K. : Der Elektrophorese-Mobilitäts-Test in der Diagnostik von Malignomen. Z.Krebsforsch.87, : 281-290 (1976)

21) DOUWES,F.R., HOFFMANN, W., MROSS,K. : Immundiagnostics of malignant diseases.II. The electrophoretic mobility test in the diagnosis of gynecological malignancies. Oncology 34, (1977)

22) DOUWES,F.R., HÜTTEMANN, U., MROSS,K. : Immundiagnostik maligner Erkrankungen.I. Der Elektrophorese-Mobilitäts-Test in der Diagnostik des Bronchialkarzinoms. Dtsch.med.Wschr.102,: 419-422 (1977)

23) EVERALL,J.D., DOWD,P.M. : Diagnosis, prognosis and treatment of melanoma. Lancet 1977 II, : 286-289

24) FIELD,E.J., CASPARY,E.A. : Lymphocyte sensitization: An in-vitro test for cancer ? Lancet 1970 II, : 1337-1341

25) FIELD,E.J., CASPARY,E.A., SHENTON,B.K., MADGWICK,H.: Lymphocyte sensitization after exposure to measles and influenza. J.neur.Sci. 19, : 179-187 (1973)

26) FIELD,E.J., CASPARY,E.A., SMITH,K.S. : Macrophage electrophoretic mobility (MEM) test in cancer : A critical evaluation. Brit.J.Cancer 28 Suppl.I.,: 208-214 (1973)

27) FIELD,E.J., SHENTON,B.K. : The macrophage electrophoretic mobility (MEM) test : A consideration of the practical difficulties and applications of the method. IRCS Med.Sci. 3, : 583-587 (1975)

28) FRITZ,J., GROND, K. : Der Einfluß von autologem Serum auf den LMI-Test beim Melanomalignom. Arch.Derm.Res. 258, : 121-126 (1977)

29) FRITZ,J., GROND, K., TILZ, G.P. : Zur zellulären Immunität beim Melanomalignom. Arch.Derm.Res. 255, : 203-209 (1976)

30) GARTMANN, J., TRITSCH,H. : Bedeutung feingeweblicher Befunde für die Prognose des malignen Melanoms. Erhebungen an 253 über fünf Jahre nachbeobachteten Melanomkranken.
Dtsch.Med.Wschr. 97, : 857-859 (1972)

31) GOLDSTONE, A.H., KERR,L., IRVINE, W.J. : The macrophage electrophoretic migration test in cancer.
Clin.exp.Immunol. 14, : 469-472 (1972)

32) GRANT,R.M., COCHRAN, A.J., HOYLE,D., MACKIE, R., MURRAY,E.L., ROSS,C. : Results of administering BCG to patients with melanoma.
Lancet 1974 II, : 1096-1100

33) GUILHOU, J.J., CLOT, J., MEYNADIER,J., LAPINSKI,H.: Immunological aspects of psoriasis. I. Immunglobulins and anti-Ig G-factors.
Brit.J.Derm. 94, : 501-507 (1976)

34) GUILHOU, J.J., MEYNADIER,J., CLOT,J., CHARMASSON,E., DARDENNE,M., BROCHIER,J. : Immunological aspects of psoriasis. II . Dissociated impairment of thymusdependent lymphocytes.
Brit.J.Derm. 95, : 295-301 (1976)

35) GUILHOU, J.J., CLOT,J., MEYNADIER,J. : T-cell defect in psoriasis : Further studies on membran markers and T-cell functions from 60 patients.
Arch.Derm.Res. 260 : 163-166 (1977)

36) HANSEN, M.G., Mc CARTEN, A.B. : Tumour thickness and lymphocyte infiltration in malignant melanoma of the head and neck.
Am.J.Surg. 128, : 557-561 (1974)

37) HEID, E., BIGEL, P., REUTER, G., FOUSSEREAU, J., BASSET, A. : Données concernant l'immunité cellulaire dans le psoriasis.
Ann.Derm.Syph. 103, : 577-579 (1976)

38) HEITE, H.J., HILDEBRAND, J. : Kritische Literaturübersicht über sog. "Spontanheilungen"beim malignen Melanom.
Hautarzt 21, : 232-233 (1970)

39) HELLSTRÖM, I., HELLSTRÖM, K.E. : Some recent studies on cellular immunity to human melanomas.
Federation Proc. 32, : 156-159 (1973)

40) HERBERMANN, R.B.: Immunologic approaches to the diagnosis of cancer.
Cancer 37, : 549-562 (1976)

41) HERMANEK, P., HORNSTEIN, O.P., TONAK, I., WEIDNER, F.: Malignes Melanom. Invasionstiefe und Melanomtyp.
Beitr.Path. 157, : 269-282 (1976)

42) IRMSCHER, J., MÜLLER, M., FISCHER, R., OTTO, G., STRIETZEL, M. : Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-Test (MEM) zur immunologischen Diagnose maligner Geschwülste.
Dtsch.Gesundh.-Wesen 30, : 687-692 (1975)

43) JENSSEN, H.L., KÖHLER, H., GÜNTHER, J., KLAUSCH, B., STRAUBE, W., HOFMANN, R., BÜTTNER, H.H. : Macrophage electrophoretic mobility (MEM) test in malignant gynecological diseases.
Arch.Gynäk. 220, : 191-198 (1976)

44) KALKOFF, K.W.; Zur Klassifizierung und Differentialdiagnose des malignen Melanoms.
Fortschr.Med. 91, : 1209-1213 (1973)

45) KLEIN, R., KRÜGER, G.R.F., SESTERHENN, K.:
T-Lymphozyten im peripheren Blut. Eine Untersuchung an 113 Patienten mit malignem Melanom.
Z.Hautkr. 53, : 62-66 (1978)

46) KOKOSCHKA, E.M., MICKSCHE, M. : Immunologie und Therapie des malignen Melanoms.
Wiener klin.Wschr. 89, : 612-622 (1977)

47) KOKOSCHKA, E.M., NIEBAUER, G. : Zur histologischen Prognosestellung beim primären Melanom.
Wiener klin.Wschr. 88, : 685-689 (1976)

48) KORTING, G.W., BORK, K. : Das maligne Melanom.
Dtsch.Ärztebl. 74, : 2211-2216 (1977)

49) KOZINER, B., COSINI, A,B., BLOCH, K.J. : Distribution of latexingesting cells, T-cells and B-cells in the peripheral blood of patients with malignant melanoma.
J.Nat.Cancer Inst. 55, : 1295-1299 (1975)

50) KÜHNL-PETZOLDT, Ch., KALKOFF, K.W. : Neuklassifizierung des malignen Melanoms.
Med.Klin. 71, : 1707-1715 (1976)

51) LAIER, E. : Elektrophorese-Mobilitäts-Test (EMT): Immunologische Tumordiagnose. Versuche über den Wirkungsmechanismus.
Dissertation Tübingen 1978

52) LAMPERT, E., NITSCHKE, U., ZWERGEL, T. : Lymphocyte sensitization in childhood solid tumours and lymphoblastic leukaemia, measured by electrophoretic mobility test.
Brit.J.Cancer 35, : 844-849 (1977)

53) LEE,Y.N., MARSHALL,G.J., WEINER,J., BATEMAN,J.R.: Peripheral B- and T-lymphocyte counts in patients with sarcoma and breast carcinoma. Cancer 40, : 667-671 (1977)

54) LEVANTINE,A., BROSTOFF,J. : Immunological responses of patients with psoriasis and the effect of treatment with methotrexate. Brit.J.Derm. 93, : 659-668 (1975)

55) LEWKONIA,R.M., KERR,E.J., IRVINE, W.J. : Clinical evaluation of the macrophage electrophoretic mobility test for cancer. Brit.J.Cancer 30, : 532-537 (1974)

56) LISCHKA,G. : T-lymphocytes and psoriasis. Arch.Derm.Res. 257, : 107-108 (1076)

57) MAGNUS,K. : Incidence of malignant melanoma of the skin in Norway, 1955-1970. Cancer 32, : 1275-1286 (1973)

58) MEYER-RIENECKER,H., JENSSEN,H.L., KÖHLER,H., GÜNTHER, J.K. : Zur Bedeutung des Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitätstests für die Diagnostik der Geschwülste des Zentralnervensystems. Dtsch.Med.Wschr. 100, : 538-543 (1975)

59) MISGELD, V.: Zur Immunologie des Melanomalignoms. Hautarzt 24, : 511-519 (1973)

60) MÜLLER,M., IRMSCHER, I., FISCHER, R., GROSSMANN,H. : Immunologisches Tumorprofil. Ein neuartiges Prinzip in der Anwendung des Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-(MEM) Test zur differenzierten Karzinomdiagnose. Dtsch.Gesundh.-Wesen 30, : 1836-1842 (1975)

61) NITSCHKE,U., ZWERGEL,Th., LAMPERT,F. :
EM-Test for childhood cancer diagnosis.
Europ.J.Pediat.126,: 163-173 (1977)

62) NÖDL, F. : Zur Histologie der Mikrometastasen des malignen Melanoms.
Arch.klin.exp.Derm.238, : 61-69 (1970)

63) OESER,H., KOEPPE,P., RACH,K.: Die Konstanz der Krebsgefährdung des Menschen.
Dtsch.Med.Wschr.99, : 273-277 (1974)

64) ORTONNE,J.P., CLAUDY,A.L., ALARIA,A.,THIVOLET,I.:
Decreased circulating E-rosette forming cells in psoralen UVA-treated patients.
Arch.Derm.Res. 258, : 305-306 (1977)

65) PETER,H.H. : Humoral and cellular immun reactions "in-vitro" against allogenic and autologeous melanom cells.
Clin.exp.Immunol.20, : 193-207 (1975)

66) PICHLER,W.J., STINGL,G., MICKSCHE,M., NEUMANN,H., KNAPP,W. : T-Lymphozyten-Verschiebungen bei Melanom- und Bronchuscarcinompatienten.
Wiener klin.Wschr. 88, : 707-709 (1976)

67) PORZSOLT,F., TAUTZ,Ch., AX, W.: Electrophoretic mobility test : I.Modifications to simplify the detection of malignant disease in man.
Behring Inst.Mitt. 57,: 128-136 (1975 a)

68) PORZSOLT,F., MÜHLBERGER,G., AX, W. : Electrophoretic mobility test : II. Is there a correlation between the clinical diagnosis and immunologic test for precancerous diseases ?
Behring Inst.Mitt. 57, :137-146 (1975 b)

69) PREECE, A.W., LIGHT, P.A.: The macrophage electrophoretic mobility (MEM) test for malignant disease. Further clinical investigations and studies on macrophage slowing factors. Clin.exp.Immunol. 18, : 543-552 (1974)

70) PRITCHARD, D.J., MILLER, G.C., RITTS, R.E., IVINS, J.C.: Thymusdependent and nonthymus-dependent lymphocytes in patients with sarcomas. Cancer 40, : 803-807 (1977)

71) PRITCHARD, A. J., MOORE, J.L., SUTHERLAND, W.H., JOSLIN, C.A.F. : Clinical assessment of the MOD-MEM cancer test in controls with non-malignant diseases. Brit.J.Cancer 34, : 1 - 5 (1976)

72) RAHI, A.H., OTIKO, G., WINDER, A.F. : Evaluation of macrophage electrophoretic mobility (MEM) test as an indicator of cellular immunity in ocular tumours. Brit.J.Ophtal. 60, : 589-593 (1976)

73) RAWLINS, G.A., WOOD, I.M., BAGSHAWE, K.D. : Macrophage electrophoretic mobility (MEM) with myelin basic protein. Brit.J.Cancer 34, : 613-618 (1976)

74) REDMANN, K., SOCHOR, H. : Der Makrophagen-Membranpotential-Test: Eine elektrophysiologische Modifikation des Field-Caspary-Tests bei Melanomkranken. Acta biol.med.germ. 34, : 1911-1914 (1975)

75) REDMANN, K., SOCHOR, H. : Der Makrophagen-Membran-Potential-Test (MMP) - ein empfindlicher Nachweis sensibilisierter Lymphozyten beim Melanompatienten. Derm.Mschr. 163, : 655-656 (1977)

76) SEILER, F.R., SEDLACEK, H.H., KANZY, E.J., LANG, W.: Über die Brauchbarkeit immunologischer Nachweismethoden zur Differenzierung verschiedener Lymphozyten : Spontanrosetten, Komplementrezeptor-Rosetten und Immunglobulinrezeptoren.
Behring Inst.Mitt. 52, : 26-72 (1972)

77) SHENTON, B.K., JENSSEN, H.L., WERNER, H., FIELD, E.J.: A comparison of the kinetics of the macrophage electrophoretic mobility (MEM) and the tanned sheep erythrocyte mobility (TEEM) tests.
J.Immunol.Methods 14, : 123-135 (1977)

78) SOBER, A.J. : Immunology and cutaneous malignant melanoma.
Int.J.Derm. 15, : 1 - 18 (1976)

79) SOCHOR, H., REDMANN, K., KUHNE, K.H. : Der Makrophagen-Membran-Potential-Test im Vergleich mit histologischem Befund und weiteren klinischen und immunologischen Parametern bei Melanomen und anderen Pigmenttumoren.
Derm.Mschr. 163, : 656 (1977)

80) SCHIEFERSTEIN, G. : Zur Immunologie des malignen Melanoms.
Klin.Wschr. 53, : 241-253 (1975)

81) SCHNEIDER, W. : Der Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-(MEM) Test. Eine immunologische Methode zur Diagnose maligner Tumoren ?
Dissertation Tübingen, 1977

82) STORCK, H.: Klinik, Statistik und Risikofaktoren des malignen Melanoms.
Dermatologica 155 , : 129-142 (1977)

83) TAUTZ, Ch., LAIER, E., SCHNEIDER, W. : Der EM-Test, ein hochsensibler Malignom-Test. Mschr.Kinderheilk.125, : 456-458 (1977)

84) TAUTZ, Ch., SCHNEIDER, W., LAIER, E., BRÜGMANN, G. : Der Elektrophoretische Mobilitäts-(EM) Test : Untersuchungsmethode zur Unterscheidung von malignen und nicht malignen Tumoren. Klin.Wschr. 56, : 175-185 (1978)

85) TRITSCH, H. : Häufigste Hautgeschwulst : Das Basaliom. Dtsch.Ärztebl. 74, : 573-580 (1977)

86) WÄTZIG, V. : Moderne Aspekte der Melanomforschung. Derm.Mschr. 163, : 353-366 (1977)

87) WYBRAN, J., FUDENBERG, H.H.: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease states : Cancer, lymphoma, bacterial and viral infections and other diseases. J.clin.Invest. 52, : 1026-1032 (1973)

88) WYBRAN, J., FUDENBERG, H.H. : T-cell rosettes in human cancer. Clinical Tumour Immunology : 31-39 Pergamon Frankfurt 1.Aufl. 1976

89) ZAUMSEIL, R.P., WOHLRAB, W. : Bemerkungen zur Therapie des malignen Melanoms. Derm.Mschr.163, : 367-371 (1977)

Lebenslauf

Am 3. Januar 1955 wurde ich, Rainer Matthias Haag, als Sohn des Dr. Albert Haag, Arzt, und seiner Ehefrau Editha Haag, geborene von der Beeck, in Bad Mergentheim geboren.

Die Schulzeit absolvierte ich
1961-1965 an der Volksschule Faurndau,
1965-1973 am Freihof-Gymnasium Göppingen, wo ich sie
1973 mit dem Abitur abschloß.

Im Wintersemester 1973/74 begann ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen mit dem Medizinstudium. Am 23.4.1980 legte ich das Staatsexamen ab.